

## ORIGINAL ARTICLE

### *Lactobacillus acidophilus* Probiotic Inhibits the Growth of *Candida albicans*

Sawitri D. Pertami<sup>1</sup>, Melkior Pancasiyanuar<sup>1</sup>, Sefy A. Irasari<sup>1</sup>, Markus B. Rahardjo<sup>2</sup>, Wasilah<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Undergraduate Program, Faculty of Dentistry, Institute of Health Science Bhakti Wiyata, Kediri 64114, Indonesia

<sup>2</sup>Faculty of Dentistry, Institute of Health Science Bhakti Wiyata, Kediri 64114, Indonesia

Correspondence e-mail: [japanese.turning@yahoo.co.id](mailto:japanese.turning@yahoo.co.id).

#### ABSTRACT

*Candida albicans* is the most common organism causing oral candidiasis. Drug resistance to synthetic antifungal medication is becoming a problem in the treatment of oral candidiasis, especially in immunocompromised patients. Probiotic has been known for its health benefits. It produces lactic acid and bacteriocin that has antibacterial effect. Research focuses on antifungal effect of probiotic, especially for *C. albicans* is still needed. **Objective:** To determine the inhibition effect of probiotic in the growth of *C. albicans*. **Methods:** Three concentrations of *Lactobacillus acidophilus*-containing probiotic (McFarland 6, 8, 10) were used to determine their inhibition effect on *C. albicans* (McFarland 0.5) growing in trypticase yeast-extract cystine (TYC) agar. The inhibition effect of probiotic was determined by measuring the inhibition zone produced after 48 hours of culture. Difference in inhibition zone among experimental groups was analyzed using one-way ANOVA and LSD post-test. **Results:** Probiotic with McFarland 10 had the highest inhibition effect against *C. albicans* and the difference to other experimental groups was statistically significant ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** *L. acidophilus* probiotic has inhibition effect in the growth of *C. albicans*.

#### ABSTRAK

**Daya hambat probiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.** *Candida albicans* (*C. albicans*) merupakan salah satu jamur yang sering menyebabkan kandidiasis oral. Resistensi obat kerap menjadi masalah dalam penatalaksanaan kandidiasis oral terutama pada pasien kompromis imun. Manfaat probiotik terhadap kesehatan telah diketahui secara luas. Probiotik memproduksi asam laktat dan bakteriosin yang mempunyai efek antibakteri. Namun penelitian yang berfokus pada efek antijamur probiotik, terutama untuk *C. albicans* masih dibutuhkan. **Tujuan:** Menganalisis efek hambatan pertumbuhan *C. albicans* setelah pemberian probiotik. **Metode:** Tiga konsentrasi probiotik yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* (McFarland 6, 8, 10) digunakan untuk melihat efek hambatan terhadap pertumbuhan *C. albicans* (McFarland 0.5) yang ditumbuhkan pada agar *trypticase yeast-extract cystine* (TYC). Pengukuran zona hambat dilakukan setelah kultur selama 48 jam. Perbedaan zona hambat antara kelompok uji dianalisis dengan *one-way* ANOVA. **Hasil:** Probiotik dengan konsentrasi McFarland 10 mempunyai efek hambatan pertumbuhan yang paling tinggi terhadap *C. albicans* dan perbedaan ini bermakna jika dibandingkan dengan kelompok uji lain ( $p < 0.05$ ). **Simpulan:** *L. acidophilus* probiotik mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

**Key words:** *Candida albicans*, inhibition concentration, *Lactobacillus acidophilus*, probiotic

#### PENDAHULUAN

Jamur merupakan salah satu penyebab infeksi pada manusia. Jamur yang paling patogen dan sering menginfeksi manusia berasal dari genus *Candida*.<sup>1</sup> Dalam rongga mulut, 70% infeksi *Candida* pada manusia disebabkan oleh *Candida albicans*.<sup>2</sup> Infeksi *C. albicans* dalam rongga mulut disebut kandidiasis oral.<sup>3</sup>

Terapi terhadap kandidiasis oral masih mengalami permasalahan, disebabkan *C. albicans* menjadi resisten terhadap anti jamur sistemik yang sering digunakan. Diperlukan penelitian mengenai bahan baru yang efektif sebagai anti jamur, khususnya terhadap *C. albicans*.<sup>4</sup> Salah satu bahan yang dapat digunakan

sebagai anti jamur adalah probiotik. Probiotik mampu mempengaruhi prevalensi *Candida* pada *silicone rubber voice protheses*, dengan cara menghasilkan asam laktat dan bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan *Candida*.<sup>5</sup>

Probiotik banyak tersedia di pasaran dengan bermacam-macam kandungan, salah satunya *L. acidophilus*. *L. acidophilus* banyak terdapat dalam produk susu fermentasi (*yoghurt*, *buttermilk*, dan susu asidofilus), pangan yang disuplementasi dan obat-obatan.<sup>1</sup> *L. acidophilus* merupakan salah satu bakteri penting yang terdapat di dalam saluran pencernaan, vagina, dan rongga mulut.<sup>6</sup> *L. acidophilus* yang terkandung dalam probiotik memiliki efek antijamur dengan menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dan *Penicillium citrinum*.<sup>6</sup> Hingga saat ini penelitian tentang daya hambat probiotik terhadap pertumbuhan *C. albicans* belum sepenuhnya dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat probiotik *L. acidophilus* terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

## METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*.<sup>7</sup> Penelitian ini menggunakan 6 sampel tiap perlakuan dalam satu kelompok. Jumlah total sampel dalam penelitian ini adalah 24. Probiotik dalam penelitian ini didapat dari produk suplemen probiotik (merk dagang A, produksi N) yang berbentuk kapsul, dengan komposisi *gellatin*, *selulose*, *whey powder*, dan  $3 \times 10^8$  *L. acidophilus*. Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini memiliki standar McFarland 6 ( $18 \times 10^8$  CFU/ml), McFarland 8 ( $21 \times 10^8$  CFU/ml), dan McFarland 10 ( $30 \times 10^8$  CFU/ml).<sup>8</sup> Uji daya hambat menggunakan sistem difusi untuk mengetahui *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yaitu konsentrasi terendah bahan yang mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*. *C. albicans* adalah jamur yang memiliki morfologi berupa *yeast like cells* atau *blastospore*, *pseudohifa*, dan *klamidospora*. Pertumbuhan *C. albicans* dalam penelitian ini ditandai dengan terbentuknya koloni jamur yang memiliki bau seperti ragi.<sup>9</sup>

Alat-alat yang akan digunakan dicuci sampai bersih, dikeringkan dan ditutup rapat dengan kertas. Alat yang telah dikeringkan, disterilisasi pada suhu 121°C selama lebih kurang 15 menit.<sup>10</sup> Untuk menumbuhkan probiotik yang mengandung *L. acidophilus*, produk suplemen probiotik N dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media BHIB, diinkubasi secara anaerob dalam *anaerobic jar* dan diinkubasi pada suhu 37°C, selama 24 jam. *L. acidophilus* yang terbentuk diisolasi dengan mengambil koloni *L. acidophilus* dan dimasukkan ke dalam media agar TYC, dan diinkubasi secara anaerob

pada suhu 37°C, selama 24 jam.<sup>6</sup> Koloni *L. Acidophilus* yang terbentuk dimasukkan ke dalam media BHIB, diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C selama 24 jam, untuk digunakan dalam pengukuran standar kekeruhan McFarland 6, 8, dan 10 yang akan digunakan dalam uji daya hambat.

Standarisasi *C. albicans* dilakukan dengan penanaman stok kultur *C. albicans* pada media *Sabouroud Dextrose Agar* ke dalam media *Sabouraud Dextrose Broth*, diinkubasi secara aerob pada suhu 37°C, selama 24 jam. Kekeruhannya diukur dengan standar McFarland 0,5. *C. albicans* tumbuh diusapkan secara merata menggunakan *cotton stick*, pada seluruh permukaan media agar TYC, diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C, selama 24 jam, untuk kemudian digunakan dalam uji daya hambat.<sup>11</sup>

Uji daya hambat dalam penelitian ini menggunakan tes difusi. *C. albicans* ditanam dalam media dengan melakukan *swab* secara merata pada permukaan media menggunakan *cotton stick*. Kertas saring dicelupkan menggunakan *pinset* ke dalam media BHIB yang berisi probiotik, dengan standar McFarland 6, tabung 2 dengan standar McFarland 8, tabung 3 dengan standar McFarland 10. Kertas saring berisi media BHIB tanpa probiotik digunakan sebagai kontrol. Setiap *petridish* yang sudah diberi probiotik ditutup dengan *petridish* yang tidak berisi media TYC. Kemudian semua *petridish* dimasukkan ke dalam *anaerobic jar*, yang berisi *gas kit* dan disimpan dalam inkubator pada suhu 37°C, selama 48 jam. Diameter zona hambat probiotik terhadap pertumbuhan *C. albicans* yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan kepekaan 0,05mm.<sup>12</sup>

## HASIL

Uji daya hambat probiotik terhadap pertumbuhan *C. albicans* menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* pada probiotik *L. acidophilus* dengan standar McFarland 6, 8 dan kelompok kontrol. Daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* terdapat pada probiotik *L. acidophilus* dengan standar McFarland 10. Hal ini dapat dilihat dari hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk, yaitu berupa daerah jernih di sekeliling kertas saring yang mengandung probiotik. Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona bening, daya hambat probiotik terhadap pertumbuhan *C. albicans* setelah 48 jam, dapat diketahui bahwa zona bening hanya didapatkan pada probiotik dengan standar McFarland 10, dimana nilai rata-rata zona bening yang terbentuk adalah 8,24mm (Tabel 1). Uji *one-way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok uji ( $p < 0,05$ ).

**Tabel 1.** Hasil pengukuran diameter zona bening daya hambat probiotik terhadap pertumbuhan *C. albicans* setelah 48 jam

Diameter zona bening (mm)				
No.	Kelompok Perlakuan		Kelompok Kontrol	
	McFarland 6	McFarland 8	McFarland 10	Kontrol (-)
1	0	0	8,3	0
2	0	0	8,15	0
3	0	0	8,45	0
4	0	0	8,2	0
5	0	0	8,25	0
6	0	0	8,10	0
$\bar{x}$	0	0	8,24	0

## DISKUSI

Hasil penelitian menunjukkan pada sekeliling *paper disk* ditumbuhi oleh *C. albicans*, yang berwarna putih kekuningan, menyebar hingga ke seluruh cawan. Pada sekitar *paper disk* yang mengandung probiotik dengan standar McFarland 6 ( $18 \times 10^8$  CFU/ml) dan McFarland 8 ( $21 \times 10^8$  CFU/ml) tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat pertumbuhan *C. albicans*. Zona hambat pertumbuhan *C. albicans* terbentuk di sekitar *paper disk* yang mengandung probiotik *L. acidophilus* dengan standar McFarland 10 ( $30 \times 10^8$  CFU/ml). Kelompok kontrol dengan *paper disk* yang hanya mengandung BHIB steril, menunjukkan pertumbuhan *C. albicans* pada seluruh *plate* tanpa disertai adanya zona hambat. Penelitian ini menggunakan pengulangan sebanyak 6 kali. Hasil penelitian menunjukkan adanya daya hambat probiotik *L. acidophilus*, terhadap pertumbuhan *C. albicans* yaitu pada standar McFarland 10.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menganalisis peran probiotik beberapa jenis *Lactobacilli* dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Candida*.<sup>13</sup> Penelitian tersebut menggunakan bakteri probiotik *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, dan *L. acidophilus* dengan konsentrasi bakteri  $10^3$ ,  $10^5$ ,  $10^7$ , dan  $10^9$ .<sup>13</sup> Hasil penelitian tersebut menunjukkan *L. acidophilus* mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi  $10^9$ . Hal ini berbeda dengan hasil penelitian lain, yang menggunakan beberapa bakteri *Lactobacillus* rongga mulut sebagai probiotik potensial, untuk menjaga kesehatan rongga mulut, termasuk dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.<sup>14</sup> Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa *L. acidophilus* tidak dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* karena bakteriosin, asam laktat, dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang dihasilkan *L. acidophilus* belum cukup mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*.<sup>14</sup>

Penelitian yang menganalisis mekanisme kerja *L. acidophilus* menyatakan bahwa bakteri ini memiliki bakteriosin berupa *acidocin*, *lactacin B*, *lactacin F*, dan bahan-bahan lain berupa asam laktat dan  $H_2O_2$ . Mekanisme kerja bakteriosin terhadap jamur sama halnya dengan mekanisme bakteriosin terhadap bakteri.<sup>15</sup> Target kerja bakteriosin adalah membran sitoplasma sel *C. albicans* yang sensitif, karena reaksi awal adalah merusak permeabilitas membran dan menghambat produksi energi, biosintesis protein, dan asam nukleat. Kontak antara bakteriosin dengan membran sel mengakibatkan gangguan potensial membran berupa destabilitas membran sitoplasma, sehingga sel menjadi tidak kuat, ketidakstabilan ini memberikan dampak berupa pembentukan lubang atau pori pada sel, sehingga terjadi kebocoran pada membran sitoplasma, yang memberikan efek berupa pertumbuhan sel yang terhambat atau mati.<sup>16</sup>

Asam laktat yang dihasilkan *L. acidophilus* juga dapat mengganggu keseimbangan asam-basa *C. albicans*. Keseimbangan asam-basa pada *C. albicans* ditunjukkan dengan pH yang mendekati normal. Interaksi dengan asam laktat akan menyebabkan perubahan pH pada protein dinding sel *C. albicans*, lapisan fosfolipid pada membran sel *C. albicans*, serta asam nukleat *C. albicans*. Hal ini akan mengakibatkan terganggunya keseimbangan asam-basa dan perubahan permeabilitas. Perubahan permeabilitas membran akan menghasilkan efek ganda, yaitu mengganggu transpor nutrisi ke dalam sel dan menyebabkan metabolit internal keluar dari sel, yang akhirnya akan menyebabkan kerusakan sel.<sup>15</sup>

*C. albicans* sebenarnya juga memiliki aktivitas antibakteri dengan menghasilkan *killer toxin*, untuk melawan bakteri gram positif tertentu termasuk bakteri *L. acidophilus*, tetapi aktivitas *killer toxin* yang dimiliki *C. albicans* kurang begitu kuat, apabila dibandingkan bakteriosin yang dihasilkan oleh *L. acidophilus*.<sup>9</sup> Hal ini terbukti dari hasil penelitian eksperimental laboratoris ini, yang menunjukkan adanya daya hambat probiotik *L. acidophilus*, terhadap pertumbuhan *C. albicans* setelah pemberian probiotik dengan standar McFarland 10.

## SIMPULAN

Probiotik *L. acidophilus* mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

## REFERENSI

- Hasslöf P, Hedberg M, Twetman S, Stecksén-Blicks C. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli-an in vitro study. BMC Oral Health. 2010;10:18.

2. Moran GP, Coleman DC, Sullivan DJ. *C. albicans* versus *C. dubliniensis*: Why is *C. albicans* more pathogenic? Int J Microbiol. 2012; 5:1-7.
3. Samaranayake, L. 2002. Essential Microbiology for dentistry. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier; 2002.
4. Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. J Oral Microbiol. 2011;3:1-14.
5. van der Mei HC, Free RH, Elving GJ, van Weissenbruch R, Albers FWJ, Busscher HJ. Effect of probiotic bacteria on prevalence of yeast in oropharyngeal biofilms on silicone rubber voice prostheses in vitro. J Med Microbiol. 2000; 49:713-8.
6. Kumar N, Narayanan R, Kavitha N, Dhanalakshmi B. Plasmid profile of lactic acid bacteria with antifungal properties. As J Food Ag-Ind. 2010;3:229-35.
7. Notoatmodjo S. Metodologi penelitian kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta; 2010. Indonesian.
8. Toma MM, Pokrotnieks J. Probiotics as functional food: microbiological and medical aspects. Acta Univ Latviensis. 2006; 710:117-29.
9. Samaranayake L and Macfarlane TW. Oral candidiasis. London: Wright. 1990.
10. Rizki FY. Uji aktivitas antibakteri ekstrak methanol bunga Rosella (*Hibiscus sabdarifa* L.) terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Stapylococcus aureus* [undergraduate thesis]. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2010. Indonesian.
11. Kuriyama TD, Ready DW, Williams J, Bagg MAO, Lewis WA, Coulter. *In vitro* susceptibility of oral *Candida* to seven antifungal agents. J Oral Microbiol Immunol. 2005; 20:349-53.
12. Fenny M. Uji Efektifitas antibakteri ekstrak teh hijau dan ekstrak daun sirih terhadap *Streptococcus viridans* [undergraduate thesis]. Surabaya: Universitas Airlangga; 2006. Indonesian.
13. Keller MK, Hassl f P, Steckslen-Blicks C, Twetman S. Co-aggregation and growth inhibition of probiotic lactobacilli and clinical isolates of mutans streptococci: an in vitro study. Acta Odontol Scan. 2011;1-6.
14. Koll P, Mandar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. Oral Microl Immunol. 2008;9:139-47.
15. Parada JL, Caron CR, Medeiros ADP, Socol CR. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. Braz Arch Biol Tech. 2007;50:521-42.
16. Winarsa, R. Daya kerja filtrat biakan hidup *Lactobacillus casei subspecies Shirota* terhadap pertumbuhan *Salmonella thypimurium*, *Shigella flexneri* dan *Eschericia coli in vitro* [thesis]. Surabaya: Universitas Airlangga, 1999. Indonesian.